

PCT/KR 03/00455

RO/KR 08.03.2003

REC'D 25 MAR 2003

Rec'd PCT/PTO 07 SEP 2004

WIPO PCT



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

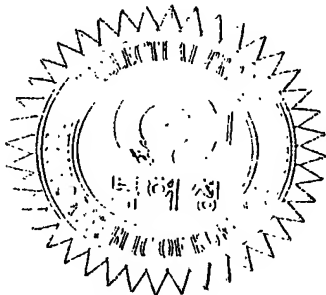
This is to certify that the following application annexed hereto is a true copy from the records of the Korean Intellectual Property Office.

출원 번호 : 10-2002-0015219
Application Number

출원 년 월 일 : 2002년 03월 21일
Date of Application
MAR 21, 2002

출원 인 : 김경진
Applicant(s) Kim Kyung Jin

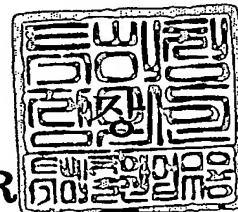
PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



2003 년 03 월 08 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0003
【제출일자】	2002.03.21
【발명의 명칭】	세포내 칼슘변화의 측정을 위한 칼슘 바이오센서
【발명의 영문명칭】	Calcium biosensor to monitor calcium concentration in a cell
【출원인】	
【성명】	김경진
【출원인코드】	4-2002-009332-2
【발명자】	
【성명의 국문표기】	박 재용
【성명의 영문표기】	PARK, Jae-Yong
【주민등록번호】	680415-1056218
【우편번호】	150-043
【주소】	서울특별시 영등포구 당산동3가 평화아파트 C-321
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	신 동승
【성명의 영문표기】	SEEN, Dongseung
【주민등록번호】	680930-1168211
【우편번호】	151-782
【주소】	서울특별시 관악구 봉천본동 두산아파트 108-2104
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	최 은욱
【성명의 영문표기】	CHOI, Eun Wook
【주민등록번호】	700802-1835626
【우편번호】	132-762
【주소】	서울특별시 도봉구 방학3동 신동아1단지 8-1103
【국적】	KR

【발명자】

【성명의 국문표기】	맹 지웅
【성명의 영문표기】	MAENG, Jiung
【주민등록번호】	770129-1024415
【우편번호】	137-755
【주소】	서울특별시 서초구 방배3동 임광아파트 5-706
【국적】	KR

【발명자】

【성명의 국문표기】	신 정희
【성명의 영문표기】	SHIN, Jung Hee
【주민등록번호】	771104-2012318
【우편번호】	131-811
【주소】	서울특별시 중랑구 면목8동 33번지 201호
【국적】	KR

【발명자】

【성명의 국문표기】	최 영식
【성명의 영문표기】	CHOE, Youngshik
【주민등록번호】	710216-1830010
【우편번호】	431-839
【주소】	경기도 안양시 동안구 호계1동 956-4
【국적】	KR

【발명자】

【성명의 국문표기】	김 경진
【성명의 영문표기】	KIM, Kyung Jin
【주민등록번호】	520101-1024511
【우편번호】	120-757
【주소】	서울특별시 서대문구 대현동 럭키아파트 104-1102
【국적】	KR

【심사청구】

청구

【핵산염기 및 아미노산 서열목록】

【서열개수】	1
【서열목록의 전자파일】	첨부

【취지】

특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. 출원인
진 (인) 김경

【수수료】

【기본출원료】	13 면	29,000 원
【가산출원료】	0 면	0 원
【우선권주장료】	0 건	0 원
【심사청구료】	3 항	205,000 원
【합계】	234,000 원	
【감면사유】	개인 (70%감면)	
【감면후 수수료】	70,200 원	

【요약서】**【요약】**

본 발명은 외부 유전자를 도입할 수 있는 삽입 형광 단백질인 페리도트(Peridot) 유전자 내에 칼슘(calcium)과 결합하는 칼모듈린(calmodulin) 유전자를 삽입함으로써 살아있는 세포내에서 안정적으로 형광을 보이며 세포 내 칼슘의 양에 따라 형광빛의 세기가 변함으로써 살아있는 세포내 칼슘의 양을 측정할 수 있는 바이오센서 분자 BCC(bio-cart for calcium)에 관한 것이다. 본 발명에서 BCC는 세포내의 칼슘변화에 따라 역동적인 형광 강도의 변화를 보여줌으로써 세포내 칼슘의 변화를 야기하는 신호의 유무를 정량적으로 보여줄 수 있다.

【대표도】

도 1a

【색인어】

녹색 형광 단백질 (GFP), 황색 형광 단백질 (YFP), 삽입형 형광단백질 (Inserted YFP), 페리도트(Peridot), 칼슘(Calcium), 칼모듈린(calmodulin), 고속평가시스템(HTS, high throughput system), BCC(bio-cart for calcium)

【명세서】

【발명의 명칭】

세포내 칼슘변화의 측정을 위한 칼슘 바이오센서{Calcium biosensor to monitor calcium concentration in a cell}

【도면의 간단한 설명】

도1a는 BCC를 도입한 HeLa 세포주를 10M의 카바콜(cabacol), 1M의 칼슘 이오노포아(ionopore), 100 mM 칼슘용액, 무칼슘용액(calcium-free solution) 등을 처리하면서 형광을 5초단위로 측정한 세포 사진

도1b는 도1a의 이미지를 공처점 현미경하에서 정량화 한 그래프

도1c는 도1b의 그래프를 자극전의 형광빛으로 정상화(normalize)한 그래프

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<4> 녹색 형광 단백질 (green fluorescence protein, 이하 GFP라 한다)은 생체 발광성 (bioluminescent) 해파리에서 동정되었다. 상기 GFP는 238개의 아미노산으로 구성되어 있으며 형광 활성을 위하여 다른 단백질 또는 기질을 필요로 하지 않기 때문에, 유전자의 발현 및 발현된 단백질의 세포 내 위치를 모니터링(monitring)하기 위한 리포터(reporter)로서 광범위한 분야에서 사용되어 왔다. 현재까지 보고된 다양한 GFP 돌연변이들에는 GFP 형광을 증가시킴으로써 만들어진 EGFP (enhanced GFP)와 형광 스펙트럼을 변형시킴으로써 만들어진 BFP (blue fluorescence protein), CFP (cyan fluorescence

protein), YFP (yellow fluorescence protein) 등이 있다. 최근 1999년 Tsien 그룹의 Baird 등은 YFP 단백질의 145번 아미노산 티로신 자리에 GGTGEL 아미노산 서열을 삽입하였을 경우에도 형광을 띄는 GFP 돌연변이를 개발하였고, 이 유전자내에 칼모둘린(calmodulin) 유전자를 삽입하여 칼슘센서(calcium sensor)를 만들고 이를 캄가루(camgaroo)라 명명하였다. 이 칼슘센서는 세포내 칼슘과 결합하는 정도에 따라 YFP의 형광 강도가 변화됨을 보임으로써 새로운 개념의 칼슘센서를 개발하였다. 그러나 이 캄가루(camgaroo)는 37도에서는 형광을 보이지 못하고, 28도에서만 형광을 띄었으며 형광의 세기도 미약하여, 단일 세포 내에서의 칼슘농도를 추적하는 수준에서의 바이오센서(biosensor)로 이용되기에는 많은 제한점을 가지고 있었다. 2001년 같은 Tsien 그룹에서 이 캄가루(Camgaroo)로 부터 돌연변이를 유발한 후 37도에서 형광이 관찰되는 변종을 선별하고 이를 캄가루2(Camgaroo2)라고 명명하였다. 캄가루2는 69번째 아미노산인 글루타민(glutamine)이 메치오닌(methionine)으로 치환된 Q69M 돌연변이를 갖게 됨으로써 37도에서 형광을 관찰할 수 있게된 변종이었다. 그러나 캄가루2(Camgaroo2) 역시 37도에서 여전히 미미한 상태의 형광빛을 보임으로써 단일 세포수준에서 칼슘을 측정하기에는 부적합하였다. 따라서 단일 세포 내에서 칼슘을 측정할 수 있는 칼슘 바이오센서를 만들기 위해서는 37도에서 안정적이고 강한 형광을 보이는 바이오센서가 요구되었다.

<5> 최근 (주)뉴로제넥스에 의해 출원된 특허10-2002-0012409에서 Q69M 변종형광단백질의 145번 아미노산 자리에 YGGSGAS 아미노산 서열을 삽입하고, 192번째 아

미노산인 프롤린(Proline)을 루이신(Leucine)으로 바꾼 새로운 형광 단백질을 개발하여 페리도트(Peridot)이란 이름으로 보고하였다. 페리도트(Peridot)은 기존에 보고된 삽입형 형광 단백질들에 비해 37 도에서 안정적이고 20배에 달하는 강한 형광을 띠므로써, 단일 세포수준에서 칼슘을 측정할 수 있는 바이오센서를 만들기에 적합한 형광단백질로써 판단되어 본 발명은 이 유전자 내에 칼모듈린(calmodulin) 유전자를 도입하여 단일세포 내에서 세포 내의 칼슘 농도를 측정할 수 있는 칼슘 바이오센서(calcium biosensor)를 개발하고자 하였다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

- <6> 본 발명은 단일 세포 내의 칼슘농도를 측정할 수 있는 칼슘 바이오센서(calcium biosensor)의 개발에 관한 것으로서 이를 위해서는 다음과 같은 문제를 해결하고자 하였다. 첫째는 37도에서 안정적인 형광을 보여야 하고, 둘째는 단일세포 내에서 칼슘의 농도를 추적할 수 있을 정도의 형광 강도를 유지해야 한다. 또한 제조된 칼슘센서는 세포 내 칼슘 농도에 민감하게 반응함으로써 세포내 칼슘농도를 형광의 변화를 통해서 대변하고 있어야 한다고 하겠다.

【발명의 구성 및 작용】

- <7> 본 발명에서는 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 페리도트(peridot)의 염기서열 내의 BamHI, NheI 제한효소 인지 자리에 칼슘과 결합할 수 있는 칼모듈린

(calmodulin) 유전자를 도입함으로써 세포내 칼슘에 반응하는 칼슘 바이오센서를 개발하고자 하였다.

<8> 이하 본 발명을 상세히 설명하면 하기와 같다.

<9> 본 발명자들은 calmodulin cDNA를 주형으로 하여, BamHI/CaM F 프라이머 5'-GGGGGATCCATGCATGACCAACTGACAGAA-3'와 NheI/CaMR 프라이머 5'-GGGGCTAGCCTTTGCTGTCATCATTTGTAC-3'를 사용하여 증합효소 연쇄반응 (polymerase chain reaction, PCR)을 수행하였다.

<10> 이후 BamHI 과 NheI 제한효소를 이용하여 페리도트 유전자 내의 BamHI, NheI 제한 효소 인지자리에 클로닝한 후, 만들어진 cDNA 염기서열을 분석한 후 제조된 재조합 유전자를 BCC(bio-cart for calcium)으로 명명하였다. 제조된 BCC를 HeLa 세포주에 도입한 후 37도에서 최소 24시간 배양하였다. 이후 BCC가 도입된 세포를 공초점 현미경 (confocal microscope)하에 위치 시킨후 아르곤 레이저(Argon laser)를 이용하여 488nm의 빛을 조사하면서 형광을 확인하였다. BCC는 실린더 모양의 YFP의 루프(loop) 부분에 칼모듈린 부위(calmodulin domain)가 위치함으로써, calmodulin 과 칼슘의 결합 정도에 따라 유도되는 BCC의 구조적인 변화가 형광의 변화로 나타나는 것으로 생각된다.

<11> BCC가 도입된 HeLa 세포를 이용하여 세포내 칼슘의 변화를 측정함으로써 세포내 칼슘농도의 변화에 따른 BCC의 형광변화를 확인함으로써 발명을 완성할 수 있었다. BCC가 도입된 HeLa 세포주에 10M의 카바콜(cabacol), 1M의 칼슘 이오노포아 (ionopore), 100 mM 칼슘용액, 무칼슘용액(calcium-free solution) 등을 순차적으로 처리하면서 BCC가 도입된 HeLa 세포의 형광을 측정하였다. 도1a는 5초 간격으로

측정한 이미지를 배열한 것이며, 도1b는 도1a에서 보여지는 4개의 세포를 대상으로 시간에 따른 세포내 칼슘의 변화를 그래프로 보여준 결과이다. BCC 유전자의 도입정도에 따라 4개의 세포는 각기 다른 정도의 형광을 띄지만, 외부 자극에 의해 동일한 양상으로 반응함을 알 수 있다. 이는 도1c에서 처럼 자극전의 형광빛으로 정상화(normalize) 해보면 명확히 알 수 있다.

<12> 이상의 결과들로부터, BCC는 외부 자극에 민감하게 반응함을 알 수 있으며 동일자극에 의해 유도된 형광빛의 증가가 일정기간 유지됨을 알 수 있다. 현재 널리 사용되고 있는 고속평가 시스템에서는 96well type의 경우 처음 well에서 마지막 well까지 측정하는데 소요되는 시간이 최소 3분인 점을 고려해 볼 때, 형광빛이 동일 자극에 대해 일정기간 (5분) 유지되는 BCC는 기존의 calcium indicator로는 고속평가 시스템 하에서 측정할 수 없는 다양한 실험에 적용 가능한 calcium biosensor라 생각된다.

【발명의 효과】

<13> 본 발명에 따른 BCC(Bio-cart for Calcium)는 삽입형 형광단백질(Inserted YFP)의 일종인 패리도트의 내부에 calmodulin 유전자를 도입한 형광 단백질로서 37도에서 안정적이면서 강한 형광을 띄며, 세포내 calcium 농도의 변화에 따라 형광의 세기가 바뀌는 칼슘바이오센서(calcium biosensor)라 할 수 있겠다. 또한 상기 BCC는 한번의 자극에 의해 증가된 형광빛이 5분이상 일정하게 유지됨으로써 다수의 시료를 대상으로 하는 고속평가 시스템에 유용하게 사용될 것으로 생각된다.

<14> 본 출원에서는 실시례로 보여주고 있지 않으나 본 발명의 BCC를 도입한 세포주를 선별함으로써 세포 수준의 칼슘 분석 시스템과 이를 이용한 유전자 도입 질환 모델 동물을 제조하여 신약 개발에 사용할 수 있음은 당 생명공학 관련자들에 있어서는 자명한 일이라 하겠다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

칼슘결합단백질 부위가 삽입된 재조합형광단백질 BCC

【청구항 2】

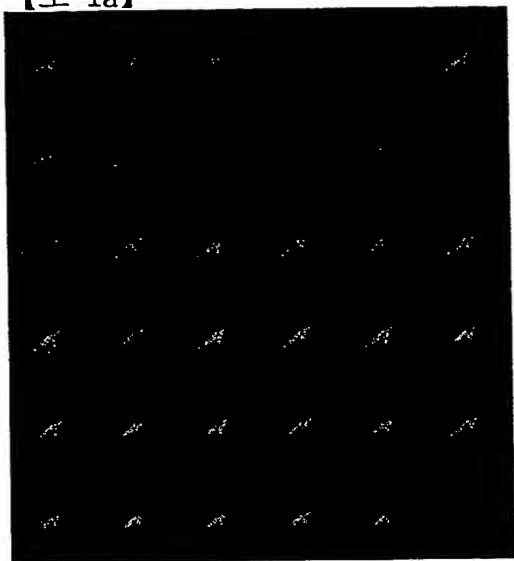
청구항1의 유전자 발현산물인 재조합 형광단백질 BCC를 코딩하고 있는 유전자

【청구항 3】

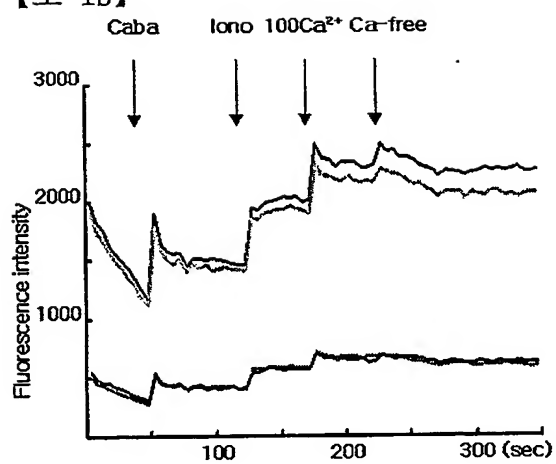
청구항1을 이용한 생체 내 칼슘 이미징 방법

【도면】

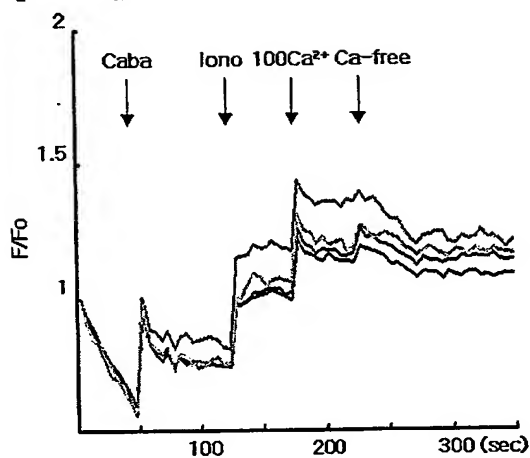
【도 1a】



【도 1b】



【도 1c】



【서열목록】

<110> NEUROGENEX CO. LTD. <120> Calcium biosensor to monitor calcium
 concentration in a cell <160> 2 <170> KopatentIn 1.71 <210> 1 <211> 1182
 <212> DNA <213> Aequorea victoria <220> <221> CDS <222> (1)..(1179) <
 223> Calmodulin Inserted peridot <400> 1 atg gtg agc aag ggc gag gag ctg ttc
 acc ggg gtg gtg ccc atc ctg 48 Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly
 Val Val Pro Ile Leu 1 5 10 15
 gtc gag ctg gac ggc gac gta aac ggc cac aag ttc agc gtg tcc ggc 96 Val Glu
 Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly 20
 25 30 gag ggc gag ggc gat gcc acc tac ggc aag ctg acc ctg
 aag ttc atc 144 Glu Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe

Ile 35 40 45 tgc acc acc
 ggc aag ctg ccc gtg ccc tgg ccc acc ctc gtg act acc 192 Cys Thr Thr Gly Lys
 Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu Val Thr Thr 50 55
 60 ttc ggc tac ggc ctg atg tgc ttc gcc cgc tac ccc gac cac atg aag
 240 Phe Gly Tyr Gly Leu Met Cys Phe Ala Arg Tyr Pro Asp His Met Lys 65
 70 75 80 cag cac gac ttc ttc aag tcc gcc atg ccc
 gaa ggc tac gtc cag gag 288 Gln His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly
 Tyr Val Gln Glu 85 90 95
 cgc acc atc ttc ttc aag gac gac ggc aac tac aag acc cgc gcc gag 336 Arg Thr
 Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr Arg Ala Glu 100
 105 110 gtg aag ttc gag ggc gac acc ctg gtg aac cgc atc
 gag ctg aag ggc 384 Val Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile Glu Leu
 Lys Gly 115 120 125 atc gac
 ttc aag gag gac ggc aac atc ctg ggg cac aag ctg gag tac 432 Ile Asp Phe Lys
 Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His Lys Leu Glu Tyr 130 135
 140 aac tac ggt gga tcc atg cat gac caa ctg aca gaa gag cag atc
 gca 480 Asn Tyr Gly Gly Ser Met His Asp Gln Leu Thr Glu Glu Gln Ile Ala
 145 150 155 160 gaa ttt aaa gag
 gct ttc tcc cta ttt gac aag gac ggg gat ggg aca 528 Glu Phe Lys Glu Ala Phe
 Ser Leu Phe Asp Lys Asp Gly Asp Gly Thr 165 170
 175 ata aca acc aag gag ctg ggg acg gtg atg cgg tct ctg ggg cag aac

576 Ile Thr Thr Lys Glu Leu Gly Thr Val Met Arg Ser Leu Gly Gln Asn

180 185 190 ccc aca gaa gca gag ctg cag
gac atg atc aat gaa gta gat gcc gac 624 Pro Thr Glu Ala Glu Leu Gln Asp Met
Ile Asn Glu Val Asp Ala Asp 195 200 205
ggt aat ggc aca atc gac ttc cct gag ttc ctg aca atg atg gca aga 672 Gly Asn
Gly Thr Ile Asp Phe Pro Glu Phe Leu Thr Met Met Ala Arg 210
215 220 aaa atg aaa gac aca gac agt gaa gaa gaa
att aga gaa gcg ttc cgt 720 Lys Met Lys Asp Thr Asp Ser Glu Glu Glu Ile Arg
Glu Ala Phe Arg 225 230 235 240
gtg ttt gat aag gat ggc aat ggc tac atc agt gca gca gag ctt cgc 768 Val Phe
Asp Lys Asp Gly Asn Gly Tyr Ile Ser Ala Ala Glu Leu Arg 245
250 255 cac gtg atg aca aac ctt gga gag aag tta aca gat gaa
gag gtt gat 816 His Val Met Thr Asn Leu Gly Glu Lys Leu Thr Asp Glu Glu Val
Asp 260 265 270 gaa atg atc
agg gaa gca gac atc gat ggg gat ggt cag gta aac tac 864 Glu Met Ile Arg Glu
Ala Asp Ile Asp Gly Asp Gly Gln Val Asn Tyr 275 280
285 gaa gag ttt gta caa atg atg aca gca aag gct agc aac agc cac aac
912 Glu Glu Phe Val Gln Met Met Thr Ala Lys Ala Ser Asn Ser His Asn 290
295 300 gtc tat atc atg gcc gac aag cag aag aac
ggc atc aag gtg aac ttc 960 Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys Gln Lys Asn Gly Ile
Lys Val Asn Phe 305 310 315 320

aag atc cgc cac aac atc gag gac ggc agc gtg cag ctc gcc gac cac 1008 Lys Ile
Arg His Asn Ile Glu Asp Gly Ser Val Gln Leu Ala Asp His 325
330 335 tac cag cag aac acc ccc atc ggc gac ggc ctc gtg ctg
ctg ccc gac 1056 Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile Gly Asp Gly Leu Val Leu Leu Pro
Asp 340 345 350 aac cac tac
ctg agc tac cag tcc gcc ctg agc aaa gac ccc aac gag 1104 Asn His Tyr Leu Ser
Tyr Gln Ser Ala Leu Ser Lys Asp Pro Asn Glu 355 360
365 aag cgc gat cac atg gtc ctg ctg gag ttc gtg acc gcc gcc ggg atc
1152 Lys Arg Asp His Met Val Leu Leu Glu Phe Val Thr Ala Ala Gly Ile 370
375 380 act atc ggc atg gac gag ctg tac aag
t aa 1182 Thr Ile Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys
385 390 <210> 2 <211>
393 <212> PRT <213> Aequorea victoria <400> 2 Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe
Thr Gly Val Val Pro Ile Leu 1 5 10
15 Val Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly 20
25 30 Glu Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe
Ile 35 40 45 Cys Thr Thr Gly Lys Leu Pro
Val Pro Trp Pro Thr Leu Val Thr Thr 50 55 60
Phe Gly Tyr Gly Leu Met Cys Phe Ala Arg Tyr Pro Asp His Met Lys 65
70 75 80 Gln His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro
Glu Gly Tyr Val Gln Glu 85 90 95

Arg Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr Arg Ala Glu 100
 105 110 Val Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile Glu Leu Lys
 Gly 115 120 125 Ile Asp Phe Lys Glu Asp Gly
 Asn Ile Leu Gly His Lys Leu Glu Tyr 130 135 140
 Asn Tyr Gly Gly Ser Met His Asp Gln Leu Thr Glu Glu Gln Ile Ala 145
 150 155 160 Glu Phe Lys Glu Ala Phe Ser Leu Phe Asp
 Lys Asp Gly Asp Gly Thr 165 170 175
 Ile Thr Thr Lys Glu Leu Gly Thr Val Met Arg Ser Leu Gly Gln Asn 180
 185 190 Pro Thr Glu Ala Glu Leu Gln Asp Met Ile Asn Glu Val Asp Ala
 Asp 195 200 205 Gly Asn Gly Thr Ile Asp Phe
 Pro Glu Phe Leu Thr Met Met Ala Arg 210 215 220
 Lys Met Lys Asp Thr Asp Ser Glu Glu Glu Ile Arg Glu Ala Phe Arg 225
 230 235 240 Val Phe Asp Lys Asp Gly Asn Gly Tyr Ile
 Ser Ala Ala Glu Leu Arg 245 250 255
 His Val Met Thr Asn Leu Gly Glu Lys Leu Thr Asp Glu Glu Val Asp 260
 265 270 Glu Met Ile Arg Glu Ala Asp Ile Asp Gly Asp Gly Gln Val Asn
 Tyr 275 280 285 Glu Glu Phe Val Gln Met Met
 Thr Ala Lys Ala Ser Asn Ser His Asn 290 295 300
 Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys Gln Lys Asn Gly Ile Lys Val Asn Phe 305
 310 315 320 Lys Ile Arg His Asn Ile Glu Asp Gly Ser
 Val Gln Leu Ala Asp His 325 330 335

20020015219

출력 일자: 2003/3/14

Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile Gly Asp Gly Leu Val Leu Leu Pro Asp 340
345 350 Asn His Tyr Leu Ser Tyr Gln Ser Ala Leu Ser Lys Asp Pro Asn
Glu 355 360 365 Lys Arg Asp His Met Val Leu
Leu Glu Phe Val Thr Ala Ala Gly Ile 370 375 380
Thr Ile Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys 385 390

【서지사항】

【서류명】	명세서 등 보정서
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2002.04.03
【제출인】	
【성명】	김경진
【출원인코드】	4-2002-009332-2
【사건과의 관계】	출원인
【사건의 표시】	
【출원번호】	10-2002-0015219
【출원일자】	2002.03.21
【심사청구일자】	2002.03.21
【발명의 명칭】	세포내 칼슘변화의 측정을 위한 칼슘 바이오센서
【제출원인】	
【접수번호】	1-1-02-0081837-81
【접수일자】	2002.03.21
【보정할 서류】	명세서등
【보정할 사항】	
【보정대상항목】	별지와 같음
【보정방법】	별지와 같음
【보정내용】	별지와 같음
【취지】	특허법시행규칙 제13조·실용신안법시행규칙 제8조의 규정에 의하여 위와 같 이 제출합니다. 제출인 김경진 (인)
【수수료】	
【보정료】	0 원
【추가심사청구료】	0 원
【기타 수수료】	0 원
【합계】	0 원
【감면사유】	개인 (70%감면)
【감면후 수수료】	0 원

20020015219

출력 일자: 2003/3/14

【보정대상항목】 발명(고안)의 명칭

【보정방법】 정정

【보정내용】

세포내 칼슘변화의 측정을 위한 칼슘 바이오센서{Calcium biosensor to monitor calcium concentration in a cell}

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.